

【講演2】

小林 克典（日本医科大学准教授）

「抗うつ作用の基盤としての海馬神経脱成熟」

日本医大薬理の小林です。私の話は、抗鬱作用ということで、鬱病の治療に関わる作用というものの神経基盤を確かめたいという、そういう話であります。精神疾患というものは、この医学の領域ではもっとも科学的研究が遅れている領域でありまして、病因とか病態というものも、よくわからないまま治療しているというのが現状です。

スライド2は、アメリカの精神医学会が出している鬱病の診断基準です。毎日の抑鬱気分とか、喜びの減少とか、患者さんの主観、それから、周りから見てどう見えるかといったような、そういう主観に基づいて診断をする。ここに科学的な根拠とか、そういうものはいっさいないという、そういう診断をしております。それから、そもそも鬱病がなぜ起こるか、その病因は何か、あるいは、どういう変化が脳で起きているか、病態は何か、そういうことについてもほとんどわかっていないという状態です。製薬会社のホームページなんかを見ますと、鬱病の患者さんは、脳内のセロトニン濃度が下がっていて鬱病になりますと書いてあるかもしれないのですが、それはうそです。そういう仮説があるのは本当なのですが、実際に何が起きているかはわかっていない。セロトニンと鬱病の関係に関しては、これは5年前に出たTIPS、薬理学の分野のレビュー誌ですが、pathophysiologicalか、あるいはmarketingのmythかというようなタイトルの論文が出てしまうほど、実はセロトニンと鬱病の関係というのは、はっきりしていないということになります。

それでは、なぜ鬱病といえばセロトニン、あるいはモノアミンというものが出てくるのかということなのですが、それは治療薬の作用機序を説明するのに便利であるというのが1つの理由になります。スライド4は、セロトニン神経の終末とそのシナプスを模式的に描いたものですが、セロトニン神経終末からセロトニンが出て、受容体に結合する。セロトニンは拡散してどこかに行ってしまうものもあるのですが、その一部は、このターミナルにあるトランスポーターによって細胞内に取り込まれる。

抗鬱薬の中で、例えば、これは日本でもっともよく使われている選択的セロトニン再取込阻害薬と呼ばれる一群、SSRIと呼ばれることが多いのですが、このSSRIと呼ばれるクラスの抗鬱薬は何をするかといいますと、このトランスポーターをブロックする。そうするとセロトニンが取り込まれなくなるので、細胞外のセロトニン濃度が上がると、こういうことになります。つまり、SSRIはこの取込をブロックすることによって、セロトニンを長期間ここに滞在させる、あるいは濃度を上げることによって、セロトニン神経の機能を間接的に高める、それが作用機序であるというふうに言われております。セロトニン以外に、例えばノルアドレナリンというようなモノアミン系の神経に効くものもありますし、代謝酵素に効くというものもあるのですが、すべて作用機序は同じで、セロトニンなり何なりのモノアミン系の神経機能を間接的に高めることが抗鬱効果に結びつくのだらうというふうに考えられております。

ところが、臨床的に、抗鬱作用というのはすぐには出てこないのです。これは、薬を飲み始めてから数週間経たないと治療効果が出てこないというのが一般的に知られております。ところが、

このセロトニンの濃度上昇というのはすぐに起こります。ですから、これは結局最初のトリガーであって、この後に何かよくわからないいろいろなことが起こって、最終的に抗鬱作用に結びつくのだらうと、そういうふうに考えられております。その、何かよくわからないいろいろなことは、今のところわからない状態で、仮説がいろいろあるというレベルでしかないというのが現状です。

今日のお話は、先ほども出てきました海馬なのですが、岡田先生のお話にもあったように、海馬は認知機能に非常に重要であるということは広く知られているのですが、精神疾患との関連でも海馬というのはよく出てきて、例えば、精神疾患の患者さんで海馬の萎縮があるとか、あるいは海馬の活動性がおかしいとか、海馬の遺伝子発現がおかしいとか、そういう話はたくさんあります。今日の抗鬱作用に関しましては、この海馬の神経回路の入口に当たる歯状回と呼ばれる部分が非常に重要な役割を果たすのではないかと、動物実験から、そういうふうに言われております。

この歯状回と呼ばれる部分は非常に特殊な部分でありまして、成体でも神経新生が継続する。脳の神経細胞、ニューロンは増えないというのが、昔はコンセンサスだったのですが、そうではなくて、この歯状回といくつかの部分では、通常でも神経新生が大人でも継続している。そして、この歯状回の中に神経幹細胞がありまして、これが分裂を繰り返していると。そのうちの一部が神経細胞に分化して、この元からある回路に組み込まれて、きちんと機能するというふうに言われております。

抗鬱薬は、この神経新生を促進するのだという論文が2000年に出ました。BrdUという物質を使うのですが、これは分裂細胞のマーカーです。細胞周期のS期に入って、分裂細胞の中に取り込まれるというマーカーです。そのBrdUで歯状回を染めてあげると、このポチポチと見えているのが染まっている部分なのですが、ここに分裂細胞があると。こちらがコントロール群で、これは何らかの抗鬱薬の処置をした群なのですが、このポツポツの数が増えているということで、分裂細胞が増えると。抗鬱薬を投与した場合は1日の投与では効果がなく、数週間投与するとこのBrdU取込の分裂細胞が増えてくるということで、その臨床的な抗鬱作用の遅延というものを説明できるのではないかと。

それから、これはECSと書いてあるのですが、electroconvulsive stimulation、電気けいれん刺激の略でして、鬱病の電気けいれん療法の動物モデルです。これは、薬物治療とは全然違う、抗鬱作用を持つであろうという処置をしても、この分裂細胞の数が増えると。そして、これの一定の割合がニューロンになりますので、結果として、神経新生が抗鬱薬の投与、あるいは別の抗鬱作用を持つ処置によって促進されるのだということが報告されて、これが抗鬱作用の神経基盤ではないかということで非常に注目を集めました。

ところが、これには大きな問題が1つありまして、新しく増えるニューロンは実は非常に数が少ないのです。我々はラットかマウスをよく使うのですが、10週齢ぐらいのヤングアダルトのラットやマウスで、投与期間中、例えばこの1ヵ月にどのぐらい神経細胞が増えるかといいますと、100個に1個ぐらいです。1%ですね。それが、100個に1個だったのが、100個に1.5個ぐらいに増えるかなという、そのぐらいの程度なのです。

これが人になりますと、さらに少なくなります。これは今年Cellに出た、ヒトで海馬の神経新生のレートというものをエスティメイトしてやろうという論文なのですが、ここでは、1日で0.004%と書いてあります。1ヵ月だと0.1%。ですから、ワンオーダー少なくなってしまうと、1ヵ月で1000個に1個増えると。それが、抗鬱薬を飲むと1000個に1.5個になるかもしれない、そういうオーダーの話なのです。それが本当に、この海馬機能、あるいは脳機能全体に対して、それだけの変化が大きな影響を持ちうるのだろうかという疑問が生まれるわけです。

実際にはあまりないという論文が、実はもう出てしまっているのですが、これは2011年の論文で、タイトルには、海馬の神経新生を特異的に増加させたマウスを作るといったインプレッシブなことが書いてあります。抗鬱薬だとか、そういうことは全然タイトルには書いていないのですが、実際にはやっておりまして、「increasing adult hippocampal neurogenesis does not produce a behavioural response like antidepressants.」ということで、神経新生を増やしただけではその行動に対する抗鬱薬様の効果はなかった、とあります。ですから、神経新生は増えるのは確かなのですけれど、それだけでは抗鬱薬用の作用はどうもないみたいだというのが現状なのです。

さて、私は生理学者でして、長年この海馬の生理学的な解析をしていたのですが、特にこの歯状回の投射ニューロンである顆粒細胞と、顆粒細胞の軸索である苔状線維とCA3のpyramidal cellが形成するシナプス、この辺りの解析を長年やっておりまして、神経新生は別にしまして、抗鬱薬を投与したときに、実際に歯状回や苔状線維シナプスでどのような機能的な変化が生じるのかを調べたいと、そのように考えました。

スライド8は海馬の電気生理学実験の典型的なものなのですが、この場合、歯状回到刺激電極を刺入しまして、ここで細胞を活動させる。そうすると、CA3でシナプス応答が出るので、それを電極で拾うということです。何か、グシャグシャというのが出るのですが、この1番大きな山がシナプス応答、EPSPでありまして、この振幅を時間に対してプロットしたというのが、下の図です。この実験の場合、ここは0.1ヘルツで刺激をしているのですが、この間、1ヘルツで刺激をしますと、EPSPのアンプリチュードが5倍にも6倍にも大きくなる。つまり、シナプスの伝達効率が非常に大きくなると、こういう現象があります。これは促通と呼ばれ、英語だとfacilitationと呼ばれているものです。こういうふうに刺激頻度を変えると、その間、伝達効率が変わるというのは、おそらくほとんどすべてのシナプスで生じる現象なのですが、このように5倍にも6倍にもなる巨大な促通というのは、実は脳のシナプスではここでしか起きないということで、非常に特殊な性質を持つシナプスなのです。ですので、こういったような促通を中心として、この機能がどのように抗鬱薬によって変わるのかを見たいということで実験を開始しました。

我々は、SSRIの1種でありますフルオキセチンというものを使いました。商品名はプロザックというやつで、1番有名なSSRIです。フルオキセチンをマウスに経口投与する。飲み水に溶かしてマウスに飲ませます。これを4週間投与するのですが、その間、アクティビティをモニターできる特殊なケージで、マウスの活動を見ながら薬物投与を行う。そして、4週間の慢性投与を行い、その後に電気生理実験や生化学実験などのいろいろな解析をする。こういう実験を行いました。

まず、先ほどの促通なのですが、これはコントロールマウスですね。コントロールマウスでは、

1ヘルツ刺激によって非常に大きな促通が起きる。ところが、フルオキセチンを4週間飲ませたマウスでは、これが非常に強く抑制されてしまう。このことを最初に見つけました。これは代表例で、これはまとめなのですが、かなりばらつきはあることはあるのですが、コントロール群と比べると明らかに分布がずれていて、統計的にも有意です。多くのマウスでは、非常に強くこの促通は抑制されます。

こういう結果が見られた場合、生理学者が最初に何を考えるかというと、これは、元々の伝達効率が上がっているのだろうということです。元々の伝達効率が上がっているから、それ以上にもう増えないのではないかと考えることを考えます。それを調べるために、これは細胞外記録をしておりますので、これはシナプス前細胞の活動、それから、こちらがシナプス後細胞の応答で、両方記録できるわけですね。これの比を取ると、伝達効率というものがスライス間で比較できるようになります。

それを実際に比較してみますと、コントロール群とフルオキセチン投与群の間で比に差はなく、伝達効率は変わっていない、むしろ落ちている。傾向としては落ちているということになりますので、最初の伝達効率が上がっているから、それ以上あまり増えないという説明はできなくなるということになります。

そこで、次に何を考えたかといいますと、そもそも苔状線維シナプスにおける促通、その非常に大きな促通というのは大人のマウスの特徴でして、生後の非常に早い段階ではすごく小さいのです。この生後の3週間ぐらいの間に、急にガーンと大きくなって、成熟レベルに達します。先ほどのフルオキセチンを投与したマウスのこのレベルというのは、生後の10日目ぐらいの非常に若いマウスの促通の大きさと大体一致するということで、これはシナプスそのものが幼若化したのではないかと考えられます。もしかすると、シナプスだけではなくて、この顆粒細胞全体が幼若化してしまったのではないかと考えました。この考えは非常に突飛な考え方で、普通はこんなことは考えないのですが、我々はこれ以前に似たようなフェノタイプを示す遺伝子改変マウスの解析をしておりまして、それと非常によく似ているなということで、もしかすると、これはフルオキセチンによって顆粒細胞全体が幼若化したのではないかと、そういう仮説を立てました。

以後、その検証に入るわけなのですが、そもそも神経細胞は、神経細胞として生まれてから成熟神経細胞になるまで、実はかなり時間が掛かります。スライド12は顆粒細胞の成熟過程を示した図なのですが、5週間か6週間経つと、成熟顆粒細胞と呼べる状態になんとかになります。それ以前に、例えば若いときに特徴的な機能的特徴とか、大人になると出てくる機能的特徴とか、あるいは若いときのマーカー、大人のマーカー、細胞の大人ですね、成熟マーカー、幼若マーカーといったものがいろいろありますので、こういったものを利用して、フルオキセチン投与後に、顆粒細胞がいったいどういう成熟度にあるかということを調べようと、そういう解析を行いました。

まずは、カルレチニン（幼若マーカー）、それから、カルビンジン（成熟マーカー）の発現というものを検討いたしました。これは免疫組織化学でありまして、カルレチニン、これはタンパクですから、これに対する抗体を使って歯状回を染めるということをやります。上段の図はコントロールマウス、下段の図はフルオキセチン投与後なのですが、明らかにフルオキセチン投与後の

マウスでは、このカルレチニン陽性細胞というものが非常に増えている。

一方、カルビンジン、これは成熟マーカーなのですが、コントロールマウスでは、この白く見える所が発現しているところなのですが、顆粒細胞層で、カルビンジンポジティブな細胞というものがたくさんある。ほとんど全部ぐらいあって、このシナプスのところも非常に強く染まっています。ところが、フルオキセチンを投与しますと、ここの辺り、真っ黒に見えますから、細胞が抜け落ちているのではないかというぐらいなくなってしまいます。実際には、ニューロンマーカーはきちんと染まるので、ここにニューロンはあるのですね。ニューロンはあるのですが、これらが、成熟マーカーであるカルビンジンを全然発現しなくなる。一方、幼若マーカーの発現は増える。ということで、幼若マーカーの発現が増えて、成熟マーカーの発現が減ります。

次に見たのが、これはimmediate early gene、最初期遺伝子というもので、細胞が活動すると出てくる遺伝子です。この場合は、マウスに何か刺激を与えると、それによってimmediate early geneが出てきます。けれど、細胞がある程度成熟した状態にならないとimmediate early geneの発現はないということで、このimmediate early geneの発現を見ると、それが生体内における細胞の機能的な成熟の指標となるというものです。

スライド15は、immediate early geneのC-FOSというものの発現を、抗体を使って見たものです。これは何も見えないのですが、実はここに顆粒細胞層がありまして、ネズミの足に刺激を与えますと、コントロールマウスではポツポツとC-FOSの発現が見られます。ところが、フルオキセチンを飲ませると、この発現がほとんど見られなくなってしまふ。

足に刺激を与えると、途中にいろんなパスウェイがありますので、どこで何が起きているかわからないのですが、今度はもっと直接的に、頭に先ほどの電気けいれん刺激をバーンと与えると、ほとんどすべての顆粒細胞でC-FOSが出るのですが、これもすべて完全になくなってしまふということが起きます。ということで、機能的な成熟マーカーであるimmediate early geneの発現が非常に強く抑制されます。

次に、これは興奮性というもので、細胞の活動性です。顆粒細胞の場合ですが、若い顆粒細胞というのは、成熟顆粒細胞よりも活動しやすいです。刺激をすると、すぐに電気的な活動を示します。遺伝子発現はないのですが、こういう電気的な活動は実は若い方が高い。すこし複雑ですが、そういうことになっておりまして、次はこれについて電気生理学的に見ました。スライド17のように顆粒細胞からWhole-cell recordingをしまして、電流を注入する。あるところまで注入していくと、活動電位がポンと出ます。この活動電位がどのぐらいの電流注入で出るかということをお調べすると、コントロールマウスよりもフルオキセチン投与マウスの方が、より小さな電流で活動電位を出します。つまり、フルオキセチン投与後のマウスの顆粒細胞の方がより活動しやすい、興奮性が高いということになります。このとき、細胞の抵抗などは変わりませんので、これはアクティブなプロパティが何か変わったということになります。ということで、興奮性は上がっている、と。

最後に、このRepetitive spikingで、連続的な発火ができるかどうかという特性を見ました。若い細胞は興奮性が高いのですが、刺激を継続しても発火活動は継続しないのですね。1発ポン

と出て、やめてしまうというようなことが起きます。その性質を見たところ、これはあまり変わらなくて、フルオキセチンを投与していてもしっかりと連続的なスパイクは出せるということで、ある程度成熟した性質は持っている。

これらを全て総合すると、フルオキセチン投与後は、顆粒細胞の成熟度というものが細胞が生まれてから3週から4週ぐらいの間にあるというふうに考えると説明できます。そして、5、6週でマチュアーと呼べる状態になりますので、その一歩手前ぐらいにあるということになります。

そうすると、ではなぜこんなことが起きるのか、というのが次の質問になります。一つの可能性としては、神経新生が非常に盛んになったということです。それによって、若い細胞がものすごく増えた。これは4週間抗鬱薬を投与していますので、抗鬱薬の投与中に生まれた細胞というのは、5週にはなり得ないわけです。そういったまだ成熟前の新生幼若細胞が非常に増えて、それらがこのような性質を示したというのが1つの可能性です。もう一つの可能性は、そうではなくて、元々は成熟細胞であったということです。成熟していた細胞が、フルオキセチン投与によって、幼若細胞様の性質を示すようにフェノタイプが変わったのだ、というのがもう一つの考え方です。これを確かめようということで、新生幼若細胞の増加か、あるいは成熟の逆転かというのを調べようという実験を行いました。

ここで出てくるのは、先ほども出てきましたBrdUという物質です。これは分裂細胞のマーカーだと申し上げたのですが、これは分裂細胞に取り込まれて、その後その細胞が分裂しなくなると細胞の中に居座るのです。この時点で細胞分裂が起きて、BrdUが取り込まれます。そして、その取り込んだ細胞が神経細胞になるともう分裂しなくなるので、ずっとBrdUを持ったままということになります。つまりこの物質は、この時点で生まれた神経細胞というものをラベルできるということになります。ですので、生後非常に若い段階、1日から3日ぐらいのところでBrdUをマウスに与えて、このときに生まれた神経細胞をラベルします。その後、延々と9週間、ただただ待ちまして、ここで生まれた細胞が成熟してくるのを待って、その後にフルオキセチンの投与を行うという実験を行いました。

赤が成熟マーカーであるカルビンジンで、緑がBrdUの陽性細胞になります。この1番左、これは9週のこの段階で薬物投与前なのですが、この時点で既に顆粒細胞層にカルビンジンの非常に強い染色があって、その中にBrdUポジティブの細胞、つまり、ここで生まれた細胞が埋まっている、というような像が見えます。その後4週間過ぎた場合、コントロールマウスでは投与前とあまり変わらないのですが、フルオキセチン投与マウスではこの赤いのがほとんどいなくなり、矢印で示すように緑のシグナルは残っているということになります。

つまり、この細胞というのは、いったん成熟してから幼若あるいは未成熟様の状態に戻ったのだという解釈になりますので、フルオキセチンは顆粒細胞の成熟を逆転させたのだというふうに結論しました。先ほどのクエスチョンは、若い細胞、新生幼若細胞が増えるのではなく成熟が戻るということで、これを成熟の逆転ということで、脱成熟、英語だとDematurationという造語を僕が作りまして、こういうふうに名付けて2010年に報告しております。

スライド20の右は先ほどと同じ図なのですが、これは細胞のageということで見た図、左はマウ

スのageで見るとどうなるかといいますと、先ほどの促通 (facilitation) は、生後10日齢と同じぐらいだと言ったのですが、このカルビンジンの発現とか、immediate early gene の発現というのも、大体この辺りから出てきますので、どちらの時間軸で見ても話は合うということになります。

SSRIはセロトニンの再取込阻害薬なのですが、では、セロトニンが脱成熟にどうつながるのかと、そういう話になります。そこで目を付けたのは、1から7まであるセロトニンの受容体のうちの5-HT4という受容体です。この5-HT4は顆粒細胞に非常に強く発現していて、さらに、この苔状線維シナプスにおけるセロトニンによるシナプス修飾を担います。スライド21の左図は、セロトニンをかけると伝達効率がバーンと上がるという図で、5-HT4のノックアウトマウスを使うと、これがほとんどなくなってしまうということで、ここで機能している受容体です。さらに右図は、フルオキシセチンを投与すると、このセロトニンによるシナプス修飾がどうなるかという図なのですが、コントロール群とフルオキシセチン投与群では、後者が2倍ぐらい大きくなるのです。要するに、5-HT4受容体依存性のセロトニンによるシナプス修飾が非常に増強するということが、顆粒細胞に発現していて、かつフルオキシセチンによる何らかの調節を受けている受容体ということになります。

ということで、次にこの受容体のノックアウトマウスを使いまして、フルオキシセチンの効果がどうなるかということを検討いたしました。こちらはワイルドタイプマウス、野生型のマウスで、カルビンジンの発現、これはウエスタンブロッティングですが、カルビンジンの発現と、シナプス促通の低下というものを見ておりまして、フルオキシセチンでどちらも下がる。ところが、このノックアウトマウスを使いますと、カルビンジンの発現低下もなくなるし、シナプス促通の低下もなくなるということで、フルオキシセチンの効果がブロックされるということになり、どうもこのフルオキシセチンによる脱成熟というのは、5-HT4受容体に依存していると考えられます。セロトニン、5-HT4受容体といって、その先に何があるかっていうのはまだわからないですが、少なくともここでセロトニンとのつながりがあるということになります。

では、このときに行動がどうなるかということなのですが、先ほども申し上げましたとおり、ホームケージの活動量というものをずっと測定しております。スライド23のグラフは、横軸は日数、縦軸は夜間の平均的な活動量を示しておりまして、コントロールマウスでは、このように日々の活動量の平均的値が非常に安定している。要するに、毎日同じ程度しか動かないということになります。

フルオキシセチンをやや低用量で投与すると、すこし活動が落ちるという程度で大きな変化はないのですが、フルオキシセチンを22mg/kgという用量で投与しますと、あるときから、バーンと上がったたり下がったりといった感じで、非常に活動が不安定になります。同じマウスを使ってその後電気生理実験をしますと、上2つではちゃんと促通がドーンと出るのですが、この条件だと脱成熟が起きていて、促通が非常に抑制されている。

この結果をもう少し定量的に扱いたいということで、この最後の2週間の間の変動係数、Coefficient of variationを計算しました。そうしますと、フルオキシセチン22というドーズで22mg/kgで投与した場合には、Coefficient of variationが明らかに大きくなって、シグニフィカントである。同じ動物で電気生理実験をしておりますので、そのcorrelationを見ると、促通が小さくな

るとバリエーションが大きくなるということで、脱成熟が進むと行動が不安定になるということになります。これは抗鬱作用だろうか。たぶん、そうではないですね。これは抗鬱作用ではなくて、おそらく抗鬱薬の副作用を見ているのだと考えております。抗鬱薬にはいろいろな副作用があります。例えば躁に転じてしまうとか、あるいは気分が不安定になるとか、それから、若年者では特に自殺傾向を増してしまうとか、いろいろな副作用があるのですね。そういう、特に気分が不安定になるという副作用がありますので、そういうような基盤をこれは見ているのではないかなと思うわけです。

副作用ではないかと考えるもう一つの根拠は、実はこの脱成熟というのは、フルオキセチンをかなり大量に飲ませないと起きません。マウスの適正用量がいくらかというのは非常に難しい問題で、人間と単純には比較できないのですね。それを比較しようということで、血中濃度を指標にしてマウスの適正用量を決めようという論文が2004年に出ました。経口投与した場合のフルオキセチンの適正值というのは、10mg/kg/dayから18の間が大体いいのではないかと、そういう論文です。

我々が見ているこの脱成熟というのは、実は18mg/kgぐらいから出てきて、安定に脱成熟を誘導するためには22mg/kgぐらい飲ませないと起きないということで、これは上に外れてしまっているわけなのです。ですから、どうもこれはオーバードーズの副作用を見ているのではないかなと、そういうふうに思えるわけです。

もう一つの問題は、我々は普通の健康なマウスを使っており、鬱病のマウスを使っているわけではありませので、もしかすると、病的状態になるとまた全然違うことが起きるという可能性もあるのではないかとということです。用量の問題と、動物のステートの問題という、そういう2つの問題があります。その点を再検証しようということで実験を行いました。

コルチコステロン、これはストレスホルモンですね。コルチコステロンの慢性投与による、鬱とか不安のモデルというものを我们用いました。コルチコステロンはストレスを受けると出てきて、海馬なども関係したフィードバック回路があるのですが、鬱病になるとそれが障害されるというような鬱病の神経内分泌系の病態を模した病態モデルなのです。そういうマウスを用いて、もう一度フルオキセチンの効果を見ました。今度はドーズを10mg/kg、我々が今まで用いていたドーズの2分の1以下で、かつ適正值であると言われているドーズにして比較を行いました。まずコルチコステロンをずっと飲ませていて、これは7週間飲ませるのですが、その後半4週間に同時にフルオキセチンを飲ませます。このとき、実際に血中濃度はどうなるかというのを調べております。こちらがピークル投与群で、こちらがコルチコステロン投与群なのですが、まず、コルチコステロン投与によってフルオキセチンの血中濃度は変わりません。それから、この点線で描いてあるところはヒトの血中濃度なので、すこし上に外れるのですが、大体ヒトの血中濃度に近いぐらいの値になります。こういったモデルを使って、もう一度脱成熟について検討しました。

まず、促通です。コルチコステロンのピークル投与群で、フルオキセチンは10mg/kg。そうすると、促通は変わらないのですね。フルオキセチンを飲ませても変わらない。ところが、コルチコステロンを飲ませている群では、コントロールでも少し差があるのですが、フルオキセチンを

飲ませるとさらに促通が低下します。ということで、むしろコルチコステロンによって、このシナプス促通に対するフルオキセチンの効果が促進されるということになります。

今度は成熟マーカーなのですが、先ほどはカルビンジンの話だけしたのですが、ほかにもいくつか成熟マーカーがありまして、フルオキセチンで全部下がるということで、これを全部見ました。これはピークル投与群です。ピークル投与群だと、このドーズのフルオキセチンは効果がありません。ところが、フルオキセチン投与群だと、成熟マーカーが全てきちんと下がるということで、この成熟マーカーの発現に対する効果についても、このフルオキセチンの効果をコルチコステロンが促進する。つまり、コルチコステロンによって脱成熟の誘導というものが促進されるのだというふうに結論いたしました。

ということですので、必ずしもオーバードーズの副作用、非常に高用量にしないと起きないというわけではなくて、脱成熟が起きるかどうかなというのは、その動物の脳、海馬のステートに依存するらしい。このような病的な状態にするとむしろ脱成熟は起きやすくなる、という結果が得られました。

これは、ヒトにも似たような抗鬱薬のステートディペンデンスというのが実はあります。これは鬱病の重さと改善効果というものをプロットしたもので、横軸は右に行くほど、鬱が重い人となります。縦軸は、上に行くほど鬱症状が改善したということになります。この最初の鬱状態がどの程度だったかということで、患者さんを分けて改善効果を見たというものです。白丸はプラセボで、グレーの方が実薬、抗鬱薬投与群なのですが、ここの辺りがだんごになっているってことは見てわかるとおり、これはプラセボ効果しかないということです。すなわち、鬱病が軽い人達というのは、実は実薬の効果が全然なくて、プラセボ効果を見ているだけということになります。ここの辺りになるとグレーと白が乖離してきますので、鬱が重い人というのは、ちゃんと抗鬱薬の実薬としての効果がある。この丸の大きさは人の数なので、実はそういう人というのはわずかでして、ほとんどの人は実はプラセボ効果を見ているだけ。非常に鬱が重くなってくると、ちゃんと実薬としての効果が出てくる。それを我々の視点で見ますと、こういう人に適正值と呼ばれている値の抗鬱薬を飲ませても何も効果がありません。けれども、こういう病的な状態になると、脱成熟が起きるのではないかというふうに考えております。

(この間、抗鬱作用と脱成熟の関係を支持する未発表データの説明)

今お話しした部分以外にも、いろいろな変化が起きます。この脱成熟を中心とした歯状回の変化というものが抗鬱作用に何らかの関係があるのであろうと考える方が自然じゃないかと思えるわけです。

これを別の視点で見ますと、抗鬱作用というものは、例えばシナプス伝達が上がるとか下がるとか、そういう単純なことではなくて、この脱成熟を中心として、それに付随する変化、というふうに見ないと本質を見失う可能性があるということになります。

抗鬱作用に関するleading hypothesis、最有力仮説の1つは、歯状回の神経新生の促進でありました。このモデルでは、この青く書いてあるのは幼若細胞で、神経新生が常にあるので、一定の割合の幼若細胞がいる。そして、抗鬱薬を投与すると、この細胞がすこし増えるというわけです。

このように増えた細胞が大事なのだというのが神経新生仮説でした。でも実際にはそうではなくて、これらもちろん起きるのですが、それに加えて脱成熟が起きる。そして脱成熟が起きると歯状回全体が脱成熟細胞になって、幼若ニューロンの様な性質を持つ細胞になってしまうので、機能的に非常に大きな変化が起こるということで、この脱成熟仮説の方が説得力があるのではないかと我々は考えております。

最後に共同研究者ですが、実験はすべて日本医科大学の鈴木教授の薬理学教室を基本として行われたもので、一部、藤田保健衛生大学の宮川さんの研究室と、京都大学の瀬木先生の研究室との共同で行っております。以上です。ありがとうございました。

(石金) ありがとうございました。それでは、何かご質問はございますでしょうか。どうぞ。

(質問者) 海馬という、先ほどの岡田先生のお話もあったように学習とか記憶とかと、どうしても結びつけてしまうのですけれども、顆粒細胞が脱成熟化することによって、何か記憶課題ができにくくなるとか、今まで覚えていたことを忘れてしまうとか、あるいは、より新しいことをどんどん覚えやすくなるとか、何かそういう変化はあるのでしょうか。

(小林) 我々はあまり詳しくはやってないのですが、フルオキセチンを飲ませると、例えばワーキングメモリーなんかは、むしろ悪くなるとされています。それは、歯状回はワーキングメモリーにかなり重要な役割を果たしておりまして、そういう機能はむしろ障害されてしまうということがあります。それから、恐怖記憶などは、記憶させてから脱成熟を起こすと、むしろ恐怖記憶がなくなったりしているように見えるような状態になりますので、それはむしろ、例えばPTSDの治療とか、そういったものに関係するかもしれないです。

(質問者) ありがとうございました。

(石金) ほかにございませんでしょうか。どうぞ。

(質問者) すみません、鬱に関しては素人なもので教えてください。マウスの鬱モデルは、コルチコステロンを投与して、そのモデルを作るというお話でしたけれども、そのコルチコステロンを慢性投与すると、いったいマウスでどういうことが起こって、どのような症状が起こるのでしょうか。

(小林) 行動ということですか。例えば明暗箱とか、高架式十字迷路とか、いろいろなものがあるのですけれども、不安様行動が増えるとか、あるいは鬱様行動が増えるとかいうのはあります。それから、アクティビティが減るなど、見かけ上鬱っぽいかなというような症状が見られます。

(質問者) 例えばヒトのことを考えると、そのコルチコステロンがずっと続いているというのは、鬱の状態になったときに、それがどれぐらい持続するかみたいなことと関係するのかなと思ってはいるのですけれども、例えばコルチコステロンを慢性投与していたら、それがどれぐらい、どういうふうに回復してくるかみたいなのと、フルオキセチンを両方加えるという、アクセルとブレーキを同時に踏んでいるようなことになると、差分が見えづらくなってしまうことはないのかなと思ったのですけど。

(小林) 我々はやってないのですけれど、慢性投与しないとおそらく行動変化はまず出てこないと思います。それを延々と与え続けるとどうなるかっていうのは、まったく誰もやっていないです。先ほど、コルチコステロンを投与しただけで少し促通が下がるという結果を見せたのですが、おそらく、何らかのアダプティブな変化は、もうコルチコステロンを投与しただけで起こってきます。それはほかにも報告がありまして、抗鬱薬を投与したのと同じ方向の変化が、ほかの指標でも実は起きてくる。ですからそれは、その病的な状態でアダプトしようという変化として、まず起こってきます。それをむしろ促進しているのではないかなと、そういうふうに見えます。

(石金) ほかにはございませんでしょうか。それでは、どうもありがとうございました。

抗うつ作用の基盤としての海馬神経脱成熟

小林克典
日本医科大学薬理学

DSM-IV-TRによる大うつ病 (major depressive disorder) の診断基準

以下の症状のうち 5 つ (またはそれ以上) が同じ 2 週間の間に存在し、病前の機能からの変化を起している。これらの症状のうち少なくとも 1 つは、(1) 抑うつ気分または (2) 興味または喜びの喪失である。

1. その人自身の言明 か、他者の観察によって示される、ほとんど 1 日中、ほとんど毎日の抑うつ気分。
2. ほとんど 1 日中、ほとんど毎日の、すべて、またはほとんどすべての活動における興味、喜びの著しい減退。
3. 食事療法をしていないのに、著しい体重減少、あるいは体重増加 (例: 1 カ月で体重の 5% 以上の変化)、またはほとんど毎日の、食欲の減退または増加。
4. ほとんど毎日の不眠または睡眠過多。
5. ほとんど毎日の精神運動性の焦燥または抑制。
6. ほとんど毎日の易疲労性、または気力の減退。
7. ほとんど毎日の無価値観、または過剰であるか不適切な罪責感。
8. 思考力や集中力の減退、または決断困難がほとんど毎日認められる。
9. 死についての反復思考、特別な計画はないが反復的な自殺念慮、自殺企図、または自殺するためのはっきりとした計画。

2

Opinion

Cell

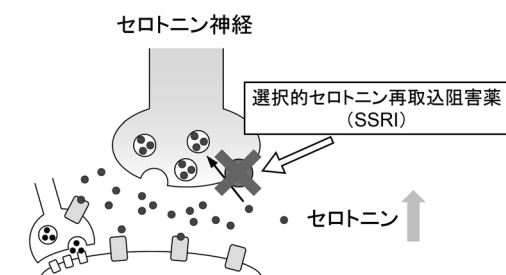
Serotonin and depression: pathophysiological mechanism or marketing myth?

Philip J. Cowen

Trends in Pharmacological Sciences 29, 433-436 (2008)

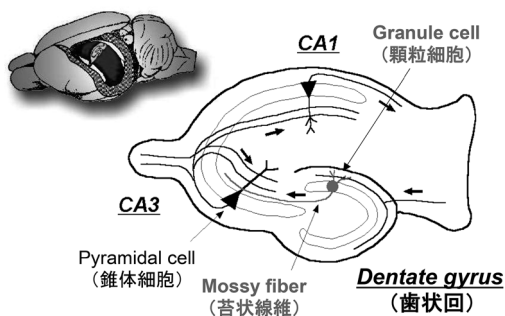
3

抗うつ薬の作用部位



4

海馬の神経回路



5

Chronic Antidepressant Treatment Increases Neurogenesis in Adult Rat Hippocampus
Malberg et al. (2000) *J. Neurosci.* 20, 9104

Cell 153, 1219-1227, June 6, 2013

Dynamics of Hippocampal Neurogenesis in Adult Humans

Kirsty L. Spalding,^{1,4} Olaf Bergmann,^{1,4} Kanar Alkass,^{1,2} Samuel Bernard,² Mehran Salehpour,⁴ Hagen B. Huttner,^{1,4} Emil Boström,¹ Isabelle Westerlund,¹ Céline Vial,² Bruce A. Buchholz,⁴ Göran Possnert,⁴ Deborah C. Mash,⁷ Henrik Druid,² and Jonas Frisén^{1,*}

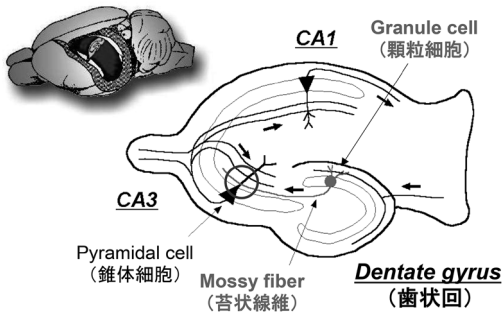
486 | NATURE | VOL 472 | 28 APRIL 2011

Increasing adult hippocampal neurogenesis is sufficient to improve pattern separation

Amar Sahay^{1,2}, Kimberly N. Scobie^{1,2}, Alexis S. Hill^{1,2}, Colin M. O'Carroll^{1,2}, Mazen A. Khairbek^{1,2}, Nesha S. Burghardt^{1,2}, André A. Fenton¹, Alex Dranovsky^{1,2} & René Hen^{1,3,4}

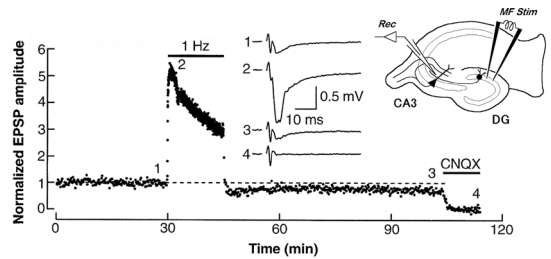
6

海馬の神経回路



7

苔状線維→CA3シナプスにおける顕著なシナプス促進



Kobayashi, Manabe & Takahashi (1996)

8

マウスに対するSSRIフルオキシセチンの慢性経口投与



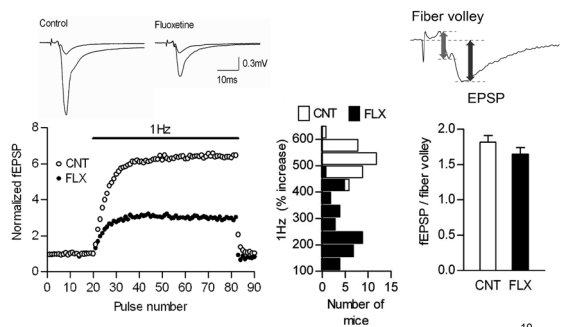
Male C57BL/6J mice (9 weeks old)

Drug treatment (22 mg/kg/day, 4 weeks)
Home cage activity monitoring

Electrophysiology, Biochemistry, Immunohistochemistry

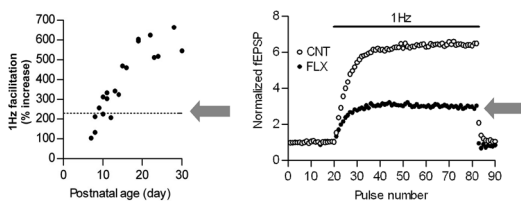
9

フルオキシセチン(22mg/kg/day)による苔状線維シナプス促進の低下



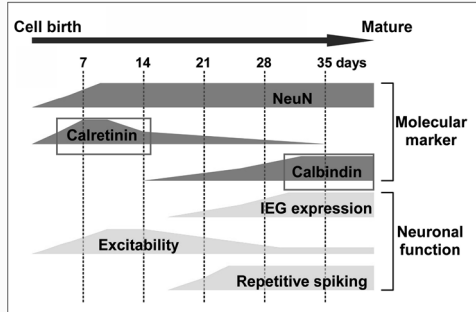
10

フルオキシセチンはシナプス促進を幼若レベルに低下させる



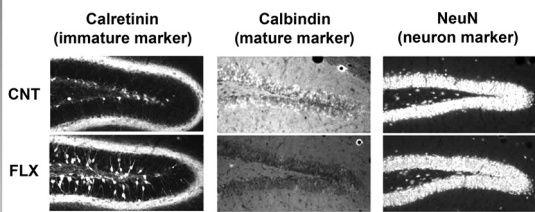
11

歯状回顆粒細胞の成熟



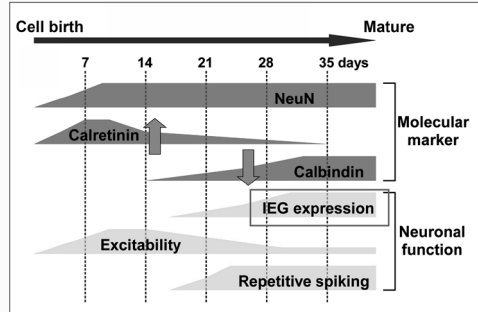
12

フルオキシセチンによる成熟マーカー(calbindin)発現上昇と
幼若マーカー(calretinin)発現低下



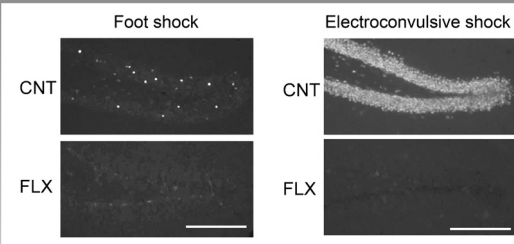
13

歯状回顆粒細胞の成熟



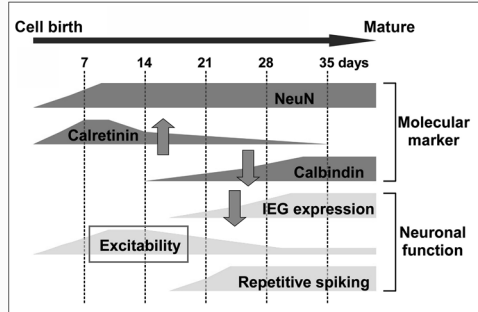
14

フルオキシセチンによる刺激依存性のc-fos発現の抑制



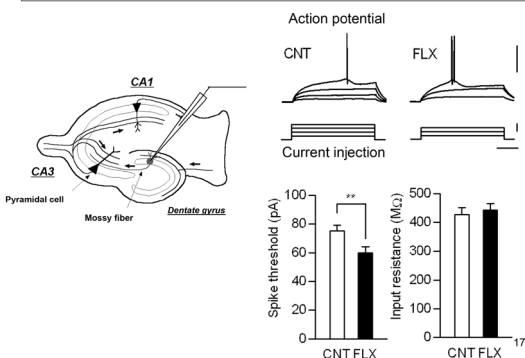
15

歯状回顆粒細胞の成熟



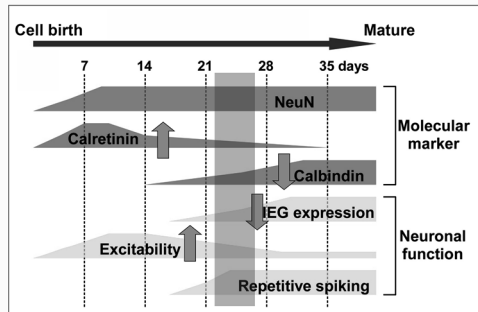
16

フルオキシセチンによる顆粒細胞の興奮性の上昇



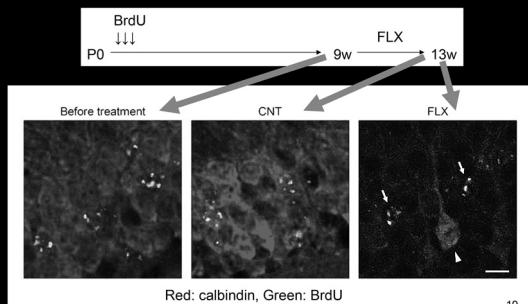
17

歯状回顆粒細胞の成熟



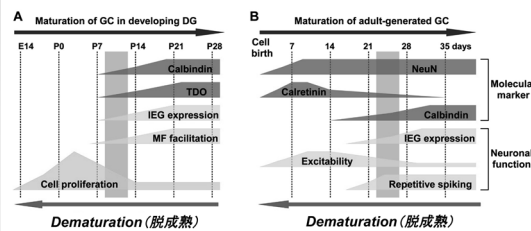
18

フルオキシセチンは顆粒細胞の成熟を逆転させる



19

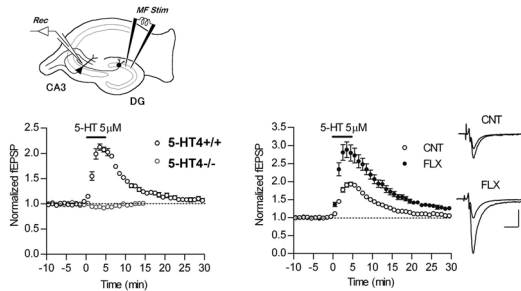
フルオキシセチンによる顆粒細胞の脱成熟



Reversal of hippocampal neuronal maturation by serotonergic antidepressants. Kobayashi et al., *PNAS* 107: 8434-8439 (2010).

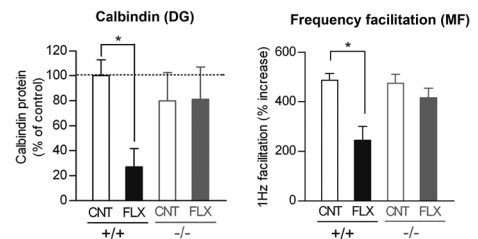
20

フルオキシセチンはセロトニンによる5-HT4受容体依存性のシナプス修飾を増強する



21

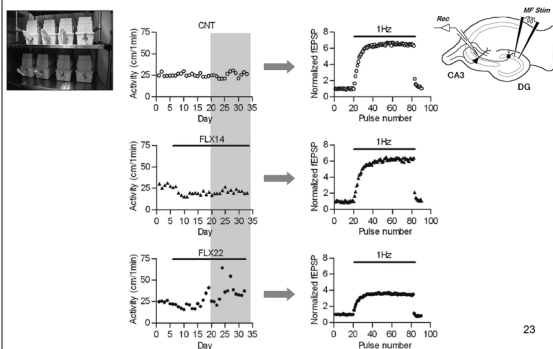
5-HT4受容体KOはフルオキシセチンによる脱成熟を抑制する



Kobayashi et al., *PNAS*, 2010

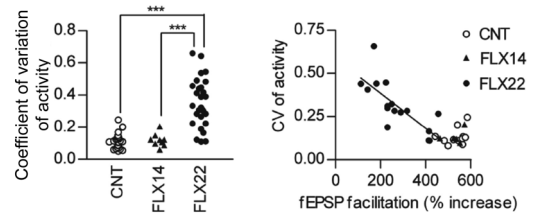
22

ホームケージ活動量に対するフルオキシセチンの効果



23

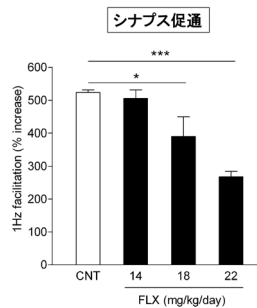
フルオキシセチンによる行動変化は脱成熟と相関する



Kobayashi et al., *Mol. Brain*, 2011

24

脱成熟誘導には高用量のフルオキセチンを必要とする



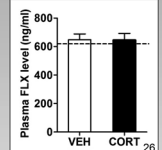
25

コルチコステロンとフルオキセチンの慢性投与

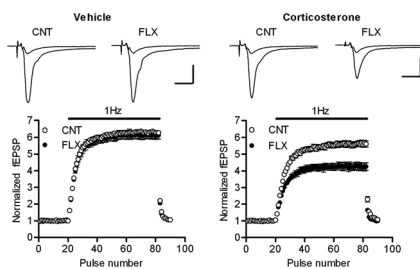


Vehicle or Corticosterone 10mg/kg/day 7 weeks

Fluoxetine 10 mg/kg/day 4 weeks



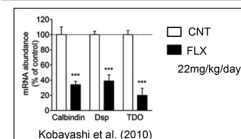
コルチコステロンはシナプス促進に対するフルオキセチン (10 mg/kg/day) の効果を促進する



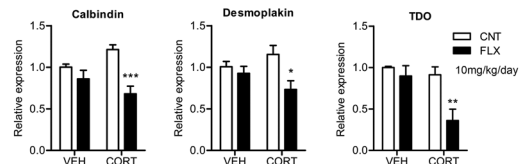
Kobayashi et al., PLoS One, 2013

27

コルチコステロンは成熟マーカー発現に対するフルオキセチン (10 mg/kg/day) の効果を促進する



Kobayashi et al. (2010)



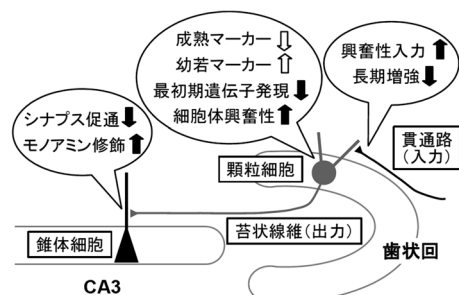
Kobayashi et al., PLoS One, 2013

28

Antidepressant Drug Effects and Depression Severity: A Patient-Level Meta-analysis
Fournier et al. JAMA. 2010; 303:47-53

29

抗うつ薬による歯状回神経回路の変化



30

